УДК 619.615.373:658.652

Сусский Е.В., Басова Н.Ю.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА И ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА ПОЛИВАЛЕНТНОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ ВИРУСНЫХ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ ТЕЛЯТ

Резюме: Вирусные пневмоэнтериты телят (ПЭТ) широко распространены в России и зарубежных странах. Основными возбудителями ПЭТ считают вирусы ПГ-3, ИРТ, ВД-БС, КВ, РВ и АД, на которые приходится от 33,2 до 60% в крупных животноводческих комплексах. Для защиты новорожденных телят от инфекций наиболее эффективными считают молозиво, моно- и поливалентные сыворотки, многие из которых разработаны, но серийно не производятся.

В работе представлены материалы по подбору и паспортизации культур клеток и штаммов вирусов ПЭТ с выраженными антигенными свойствами. Определены параметры культивирования вирусов и изготовления комплексных антигенов, установлены требования к донорам и разработана рациональная схема 4-х кратной гипериммунизации и эксплуатации волов-продуцентов (ВП) при серийном производстве поливалентной сыворотки против вирусных ПЭТ. Доказано, что уровень накопления антител в СК доноров зависит от активности вирусных антигенов. Титры антител в СК ВП, иммунизированных антигенами, изготовленными в перевиваемых линиях клеток роллерным методом были практически в 2 раза более высокими, чем при использовании первичных культур клеток. Доказана равноценная возможность применения в качестве антигенов коммерческих вакцин и культурального антигена. Результат достигнут за счет предварительного 2-х кратного грундирования доноров вакцинами против вирусных ПЭТ, в период карантинирования, а также внедрения в практику «Системы управления качеством», правил GMP и статических методов контроля показателей на всех этапах производства лечебной сыворотки. Использование в качестве антигенов коммерческих вакцин позволяет получать СК с титрами антител на порядок ниже, чем при использовании поливалентных антигенов. Препарат безвреден, активен, и востребован практикой. Сохранность новорожденных телят при лечении и профилактике вирусных пневмоэнтеритов составляет, соответственно, 92,8÷93 и 96,7÷100%. Новизна и оригинальность способа получения поливалентной СК против вирусных ПЭТ защищены патентом за № 2407543.

Ключевые слова: сыворотка крови, пневмоэнтериты телят, вирусные инфекции, вирусный антиген, гипериммунизация, поливалентная сыворотка, система обеспечения качества.

Введение. Пневмоэнтериты телят (ПЭТ) широко распространены как в Российской Федерации, так и зарубежных странах. По заболеваемости, летальности, вынужденному убою и снижению привесов вирусные ПЭТ превалирует над другими видами заболеваний КРС. На долю указанных инфекций приходится 33,2-44 %, в условиях крупных комплексов – свыше 60% всех случаев заболеваний телят в возрасте до 1 года. Экономический ущерб обусловлен гибелью, вынужденным убоем (до 40-55%), 2-3-х кратным снижением привесов и значительными затратами на лечение и профилактику ПЭТ. Основными возбудителями ПЭТ считают вирусы парагриппа – 3 (ПГ-3), инфекционного ринотрахеита (ИРТ), вирусной диареи – болезни слизистых (ВД-БС), рота- (РВ), корона- (КВ) и адено- (АД) вирусы, а также широкий спектр бактериальных и других возбудителей. Пусковым механизмом острых заболеваний телят считают как отдельные вирусы, так и их различные сочетания [1,3,5,10,15,16].

Для профилактики острых вспышек вирусных ПЭТ предложен широкий спектр вакцин, которые успешно используются в ветеринарной практике для иммунизации стельных коров, в тоже время проблема сохранности новорожденных телят остается актуальной, так как специфические антитела синтезируются в организме телят лишь с 2-3-х недельного возраста, а недостаточное и несвоевременное поступление иммуноглобулинов с молозивом приводит к иммунодефицитам и высокой чувствительности животных к патогенному воздействию возбудителей. Для защиты новорожденных телят от заражения рекомендуются, при своевременной и достоверной диагностике инфекций, применение моно-, а в экстренных случаях при ассоциативных инфекциях (АИ) – более

эффективные поливалентные сыворотки крови (СК) против вирусных ПЭТ, многие из которых разработаны, но не производятся для практического применения [2,6,7,8,11,12,14,17]. Поэтому исследования, направленные на разработку, оптимизацию и стандартизацию серийного производства, обеспечение качества и увеличения валентности СК против вирусных телят являются весьма актуальными и востребованными практикой.

Материалы и методы. В качестве культуральных моделей (КМ) использовали первичные (ПТ - почку теленка, ПЭК - почку эмбрионов коров, ТБ - тестикулы быка) и перевиваемые (MDBK, СПЭВ, Таурус-2, ПЭК) культуры клеток. Для производства антигенов были отобраны и аттестованы в ВГНКИ производственные штаммы вирусов ИРТ - МВА 80/15, ПГ-3 - МВА 77/14, ВД-БС-ВК1-В1, РВ-РП82, КВ-КП83, АД-В10. Предварительно штаммы вирусов были адаптированы к тест-культурам (ТК) в течение 3-х пассажей. Культивирование вирусов осуществляли стационарным и роллерным методами при оптимальных технологических параметрах. Полученный материал однократно замораживали при -20°С и оттаивали при +37°С, активность оценивали методом микротитрования на плашках и использовали для производства комплексных антигенов.

Очистку и концентрирование вируссодержащих материалов осуществляли при помощи сульфата бария (5-10 %) при постоянном перемешивании и температуре +36,5 - 37°С в течение 30-35 минут. Осадок отделяли центрифугированием, а элюцию вируса с сорбента проводили при помощи 0,2-0,25М раствора лимоннокислого натрия. Раздельно полученные антигены (А) вирусов ИРТ, ПГ-3, ВД-БС, РВ и КВ смешивали в равном соотношении и использовали для гипериммунизации волов-продуцентов (ВП). Аденовирус с активностью 6,0-7,0 lgТЦД 50/ см инактивировали формалином (не более 0,5 %) при 37°С в течение 24-30 ч, затем добавляли гидроокись алюминия до 25 % и применяли в качестве антигена (В) для гипериммунизации ВП. Культуральные антигены хранили при 4-6°С не более 30 суток.

В качестве продуцентов СК использовали клинически здоровых волов красной степной породы в возрасте 3-8 лет и массой не менее 400 кг. Подготовку доноров осуществляли в соответствии с требованиями «Инструкции о порядке карантинирования, ветеринарно-санитарной обработки и содержания животных».

Результаты и обсуждение. Рабочая схема производства лечебных сывороток – это сложный, многостадийный и достаточно длительный процесс, который имеет свои особенности как при разработке, так и при изготовлении различных видов лечебных препаратов.

Технологию изготовления поливалентной СК для лечения и профилактики вирусных ПЭТ впервые разработала группа авторов под руководством В.В. Гуненкова [4]. При выборе КМ для изготовления вирусных антигенов были испытаны первичные и перевиваемые ТК. Установлено, что ПЛК являются достаточно чувствительным и более перспективным субстратом, обеспечивающим на 0,5-1,0 lg ТЦД50/см3 более высокое накопление вирусов (РВ-7,0±0,60, ИРТ-7,5±0,43, ВД-БС-6,5±0,18, КВ-7,0±0,35, ПГ-3-7,5±0,6, АД- 6,5±0,57lg ТЦД50/см3), чем в первичных культурах клеток.

Отбор ВП в качестве доноров основывался на результатах 2-х кратной иммунизации животных коммерческими вакцинами с интервалом 14 суток против вирусных ПЭТ. Через 14-21 суток после повторной иммунизации оценивали активность СК. Пригодными для эксплуатации считали доноров, содержащих в СК антитела против РВ (1:4-1:8), ИРТ (1:4-1:8), ВД-БС (1:4-1:8), КВ (1:8-1:16), АД (1:4-1:8) и ПГ-3 (1:8-1:16) не ниже регламентированных показателей, а также содержащих в крови гемоглобин 105-140 г/л, эритроциты 5,0-7,0 х 1012/л, СОЭ 0,6-0,8 мм/час и общий белок на уровне 85 г/л. Животные с пониженным содержанием гемоглобина и повышенной температурой тела освобождались от эксплуатации до их полного выздоровления.

При выборе антигена и оптимальной схемы гипериммунизации животных-доноров учитывали рекомендации различных авторов [5, 6, 11, 12]. Сравнительная оценка эффективности комплексных антигенов при 4-х кратной гипериммунизации ВП с интервалом 14 суток показала, что уровень накопления антител в СК доноров был более стабильным и практически в 2 раза более высоким при использовании комплексных антигенов, изготовленных из вируссодержащего материала, полученного ПЛК роллерным методом. Отмечено также, что дальнейшее повышение активности, доз и кратности введения (5 и 6) комплексных антигенов не приводило к увеличению активности лечебных СК. Апробированная схема гипериммунизации оказалась доста-

точно эффективной и обеспечивала получение поливалентной СК против РВ - 1:64, ИРТ - 1:128, ВД-БС- 1:64 ÷ 1:128 в РН и КВ - 1:128, и ПГ-3 - 1:256 ÷ 1:512 в РТГА, АД - 1:128 в РНГА с активностью не ниже установленных показателей.

Высокая себестоимость и трудоемкость серийного производства культуральных антигенов, контаминация и значительные затраты на паспортизацию и сохранность перевиваемых линий клеток в жидком азоте послужили основанием для поиска альтернативных вирусных антигенов, пригодных для производства поливалентной СК против вирусных ПЭТ.

В сравнительном аспекте оценивали антигенные свойства, пригодность и перспективность очищенного концентрированного культурального антигена (I), состоящего из двух компонентов комплекса штаммов вирусов РП-82 (РВ), МВА-80/15 (ИРТ), ВК-В1 (ВД_БС), КП-23 (КВ) и МВА-77/14 (ПГ-3) и инактивированного штамма В-10 аденовируса (АД), сорбированного на гидрате окиси алюминия.

В качестве альтернативного комплексного антигена (II) были испытаны коммерческие биопрепараты:

- «Вакцина против ротавирусной, короновирусной инфекции и вирусной диареи крупного рогатого скота эмульсионная инактивированная» (СТО 00495527-0160-2010, изготовитель - ВНИИЗЖ);

- «Вакцина против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота сухая культуральная ассоциированная» (СТО 00482861-0016-2006, изготовитель - Ставропольская биофабрика);

- Аденовирусный инактивированный культуральный антиген штамма В-10 (изготовитель – Армавирская биофабрика).

Сухие образцы вакцин, соответствующие требованиям НД, разводили физраствором по инструкции. Четырехкратную гипериммунизацию ВП проводили с интервалом 14 суток. Образцы культуральных антигенов и коммерческих вакцин вводили раздельно п/к и в/м в возрастающих дозах в области шеи. В процессе гипериммунизации отклонений от физиологической нормы у доноров не установлено. Пробное взятие крови осуществляли через 7-10 суток после последней инъекции антигенов. Результаты гипериммунизации ВП культуральными антигенами и коммерческими вакцинами представлены в таблице 1.

Показано, что концентрированные культуральные антигены (которые более активны) и коммерческие вакцины обладают выраженными антигенными свойствами, однако в первом случае наблюдается более стабильное накопление антител. В тоже время достоверных различий в активности поливалентных СК, изготовленных с использованием культуральных антигенов и коммерческих вакцин не установлено ($p < 0{,}05$). Полученный результат достигнут за счет предварительного 2-х кратного грундирования ВП вакцинами против вирусных ПЭТ в период карантирования. Предложенный и апробированный нами набор антигенов и рациональная схема гипериммунизацию и эксплуатации ВП позволили получить практически равноценные по активности и эффективности гипериммунные СК.

Стабильность производства и высокая активность промышленных серий поливалентной СК была достигнута за счет внедрения в практику «Системы управления качеством» и правил GMP с обязательным использованием статистических методов контроля на всех этапах изготовления лечебного препарата [9].

За четырехлетний период было организовано серийное производство, изготовлено и реализовано 38 серий «Иммуносерум - сыворотки для лечения и профилактики вирусных пневмоэнтеритов телят» (коммерческое название) в объеме 17762 л, которые по физико-химическим показателям и активности соответствовали требованиям СТО 00482849-0018-2007 (табл. 2). Необходимо отметить, что в первые 2 года в качестве антигена использовались очищенные концентрированные культуральные препараты, а в период 2012-2013 гг применялись коммерческие вакцины, но ВП в период карантинирования двукратно грундировались против вирусных ПЭТ. Этот прием оказался чрезвычайно эффективным и экономически оправданным и дал возможность стабилизировать производство, повысить активность производственных серий до максимальных значений, а рентабельность производства и прибыль за 1 т/доз увеличились соответственно с 10,4 до 121% и с 5409 до 31460 рублей. Годовой экономический эффект составил 3 126 100 рублей. Полученный результат достигнут за счет снижения затрат на хранение и паспортизацию тест-культур, а также на приобретение оборудования, материалов, оплату труда при сохранении активности, лечебной и профилактической эффективности коммерческих серий поливалентной сыворотки против возбудителей вирусных ПЭТ.

Таблица 1. Схема и эффективность гипериммунизации волов-продуцентов при производстве «Иммуносерум-сыворотки для лечения и профилактики вирусных пневмоэнтеритов телят» (Scheme and efficiency of hyperimmunization oxen-producers for the manufacture of the «Immunoserum-syvorotki dlja lechenija i profilaktiki virusnyh pnevmojenteritov teljat»)

Вариант комплексного антигена	Характеристика комплексного антигена	Состав комплексных антигенов	Дозы антигена мл	Дни иммунизации сутки	Активность компонентов СК, log_2					
					Метод контроля					
					РН			РТГА		
					РВ	ИРТ	ВД-БС	КВ	АД	ПГ-3
I	Культуральный концентрированный очищенный антиген Производитель – Армавирскаябиофабрика	РВ	15-30-30-30	1	2,0-3,0	2,0-3,0	2,0-3,0	3,0-4,0	2,0-3,0	2,0-3,0
		ИРТ								
		ВД-БС		14	3,0-5,0	4,0-5,0	3,0-4,0	4,0-6,0	4,0-5,0	4,0-6,0
		КВ		28	5,0-6,0	6,0-7,0	5,0-6,0	6,0-7,0	6,0-7,0	7,0-8,0
		ПГ-3		42	6,0-7,0	7,0-8,0	6,0-7,0	7,0-8,0	7,0-8,0	8,0-10,0
		АД	5-10-10-10							
	Активность серий (n= 5) поливалентной СК (M± m)				5,8±0,37	5,6±0,24	6,0±0,32	7,0±0,32	6,8±0,32	8,0±0,37
II	Вакцина против ротавирусной, корона-вирусной инфекции и вирусной диареи КРС эмульсионная инактивированная СТО 00495527-0160-2010 Производитель - ВНИИЗЖ	РВ	10-20-20-20	1	1,0-2,0	1,0-2,0	1,0-2,0	2,0-3,0	1,0-2,0	1,0-3,0
		КВ								
		ВД-БС								
	Вакцина против парагриппа-3, инфекционногоринотрахеита КРС сухая культуральная ассоциированная СТО 00482861-0016-2006 Производитель – Ставропольская биофабрика	ПГ-3	5-10-10-10	14	2,0-3,0	2,0-3,0	3,0-4,0	3,0-4,0	2,0-3,0	3,0-4,0
		ИРТ		28	4,0-5,0	4,0-5,0	4,0-6,0	5,0-6,0	4,0-5,0	5,0-6,0
	Культуральный инактивированный антиген из штамма В-10 аденовируса КРС Производитель – Армавирскаябиофабрика	АД	5-10-10-10	42	5,0-6,0	6,0-7,0	5,0-7,0	6,5-7,0	6,0-7,0	7,0-9,0
	Активность серий (n= 5) поливалентной СК (M± m)				6,2±0,37	5,8±0,37	6,4±0,24	6,8±0,38	7,2±0,36	8,4±0,24

Таблица 2. Характеристика производственных серий «Иммуносерум-сыворотки для лечения и профилактики вирусных пневмоэнтеритов телят» (Characteristics of production series of the «Immunoserum-syvorotki dlja lechenija i profilaktiki virusnyh pnevmojenteritov teljat»)

Год	Количество серий шт.	Объем производства л	Активность компонентов СК *						Биохимические показатели			
			Метод контроля									
			РН			РТГА						
			РВ	ИРТ	ВД-БС	КВ	АД	ПГ-3	Кальций мг%	Фенол %	Общий белок %	pH
2010*	8	1532	32-128	16-32	32-64	32-64	64-128	128-256	25,0-26,7	0,42-0,49	6,0-6,4	7,46-7,59
2011*	10	4582	32-256	32-64	32-64	32-64	64-128	128-512	24,7-26,0	0,39-0,47	6,0-6,7	7,3-7,69
2012**	14	6397	64-256	32-128	32-64	64-128	64-128	128-512	24,8-20,7	0,38-0,45	6,0-6,2	7,5-7,98
2013**	6	5251	128-512	64-256	64-128	128-256	128-256	512-1024	25,0-26,0	0,38-0,45	6,0-6,2	7,7-7,98
Итого	38	17762	Активность промышленных серий СК, $\log_2$						Показатели нормы			
			5,6±0,1	6,6±0,2	4,7±0,1	5,6±0,1	6,6±0,2	7,8±0,1	25±0,5	Не более 0,5	6-8	6,5-8,0

Обозначения: * - обратная величина разведения СК;
** - для иммунизации ВП использовались культуральные антигены.

Стабильность серийного производства «Иммуносерум-сыворотки для лечения и профилактики вирусных пневмоэнтеритов телят» подтверждена при помощи контрольных карт Шухарта типа Х (рис.1). Показано, что показатели активности компонентов 38 коммерческих серий поливалентной СК, изготовленных в 4-летний период, находились в пределах статистических границ ± 3ϭ, что указывает на стабильность технологических процессов производства и достаточно высокую активность целевого продукта.

Активность компонентов поливалентной СК против РВ, ИРТ, ВД-БС, КВ, Д и ПГ-3 сохранялась на исходном уровне при

A **B**

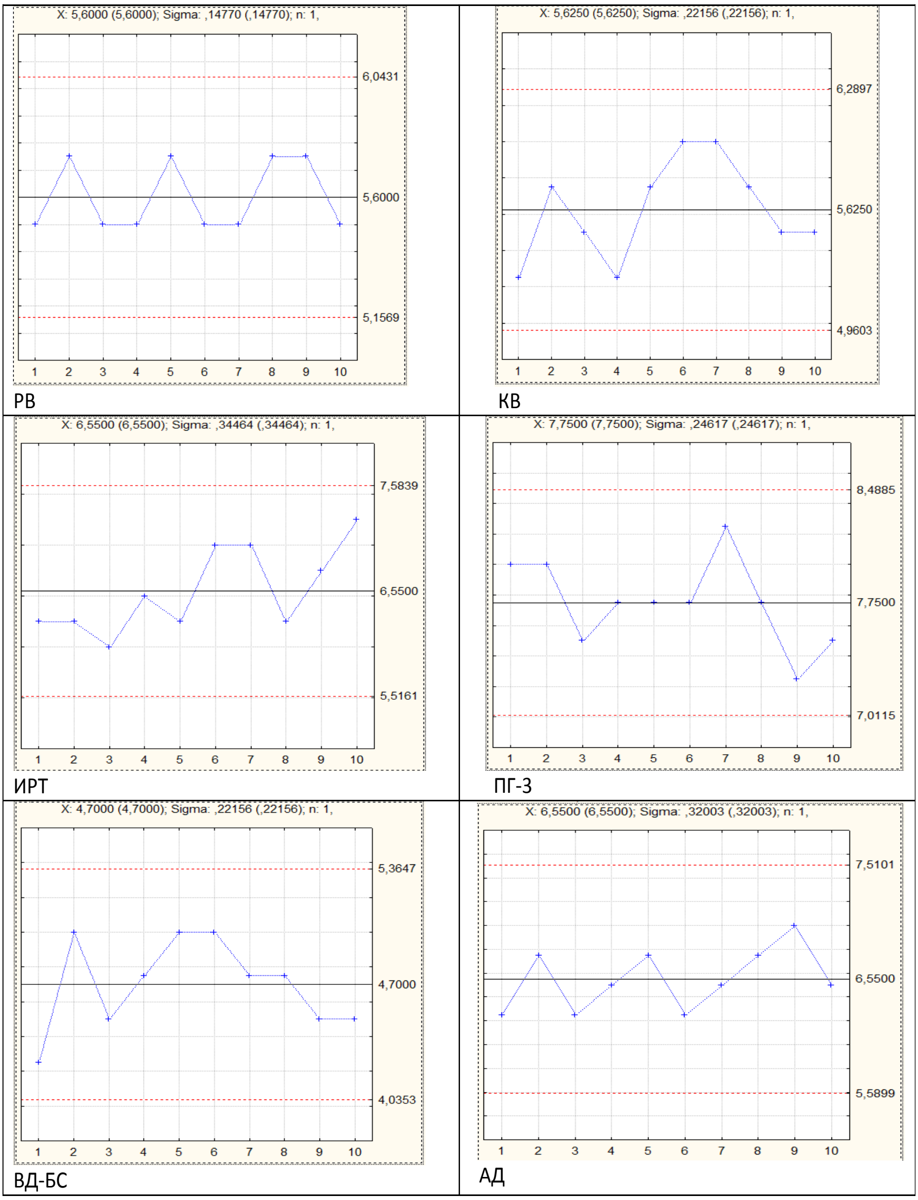

Рис. 1. Статистическая оценка показателей активности компонентов поливалентной сыворотки «Иммуносерум» методом контрольных карт Шухарта типа Х±σ (А – активность СК в РН; В – активность СК в РН) (Statistical evaluation of indicators of activity of components of the polyvalent serum «Immunoserum» by Shewhart control maps, type X ± σ)

температуре (2-8) 0С в течение 18 месяцев хранения (срок наблюдения).

Промышленные серии поливалентной СК были стерильными, безвредными, активными и соответствовали требованиям СТО 00482849-00180200. Рекламаций на качество СК от потребителей не поступало.

Лечебные и профилактические свойства 2-х производственных серий (3 и 8) поливалентной СК были изучены в 2-х хозяйствах Краснодарского края. Установлено, что производственные серии поливалентной СК против вирусных ПЭТ обладали выраженным лечебным и профилактическим эффектом. Сохранность новорожденных телят при лечении и профилактике животных в I и II хозяйствах составила соответственно 92,9 и 92,8%, 96,7 и 96,2%. При выяснении этиологии пневмоэнтеритов телят были исследованы по 50 проб СК от переболевших животных. Установлено, что 57 (I) и 73 (II) % сывороток содержат антитела соответственно к вирусам ИРТ, КВ, ВД-БС и ПГ-3, ВД-БС, КВ, что может свидетельствовать о их роли в этиологии и патогенезе данных заболеваний новорожденных телят.

Эффективность «Иммуносерум» также оценивали в 2-х животноводческих комплексах, содержащих соответственно 2546 и 2646 голов КРС, в том числе по 168 и 178 голов новорожденных телят 5-25 дневного возраста. После введения лечебной СК не было выявлено изменений в общем состоянии организма телят. Серотерапия и серопрофилактика оказались эффективными, гибели телят в указанных хозяйствах не отмечено.

Таким образом, в результате исследований впервые разработана технология изготовления, «Система обеспечения качества» и организовано серийное производство «Иммуносерум - сыворотки для лечения и профилактики вирусных пневмоэнтеритов телят». Поливалентная СК безвредна, активна, обладает выраженным лечебным и профилактическим эффектом, востребована практикой и содержит в своем составе широкий спектр специфических антител, способных нейтрализовать патогенетическое действие6 видов возбудителей вирусных пневмоэнтеритов КРС. Новизна и оригинальность способа получения поливалентной СК против вирусных пневмоэнтеритов телят защищены патентом Российской Федерации за № 2407543.

Библиография

1. Басова Н.Ю. Респираторные болезни молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии в условиях Северного Кавказа: автореф. … дис. докт. вет. наук, Краснодар, 2002, 42 с.
2. Гаффаров Х.З., Иванов А.В., Непоклонов Е.А., Равилов А.З. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят, Казань: ФЭН, 2002, 540 с.
3. Глотов А.А. Шкиль Н.А., Глотова Т.И. Вирусные и ассоциативные вирусно-бактериальные респираторные болезни крупного рогатого скота (особенности эпизоотологии, патогенеза, клинического проявления, патологоанатомических изменений) //Ветеринарный консультант, 2005, № 9, С.5-14.
4. Гуненков В.В., Шевцова Л.И., Майстренко Е.С., Сусский Е.В., Ярцев С.Н., Уласов В.И. Патент 2407543 РФ, МПК А 61 К 39/12. Способ получения сыворотки для лечения и профилактики вирусных кишечных и респираторных болезней телят, № 2009126043/15; опубл. 27.10.2012.
5. Кис В.И. Серопрофилактика пневмоэнтеритов телят в промышленных откормочных хозяйствах, дис. … канд. вет. наук, М: 1980, 261 с.
6. Медведев А.П. Противобактериальные лечебно-профилактические сыворотки, Витебск: УОВГАВМ, 2007, 295 с.
7. Муравьев В.Н. Система серопрофилактики респираторно-кишечных за, С. 21-22.
8. Осидзе Д.Ф. Ветеринарные препараты. Справочник – М.: Колос, 1981, 270 с.
9. Сусский Е.В. Скотникова Т.А., Ночевный В.Т., Бобровская И.В. Система обеспечения качества лечебных сывороток на Армавирской биофабрике // Ветеринарная патология, 2013, №2, С. 112-117.
10. Федоров Ю.Н., Горбунова М.Ю. Факторы иммунологической защиты у новорожденных животных // Бюллетень ВИЭВ. Вып.47. Болезни молодняка – М., 1982, С. 60-62.
11. Цветков П., Хараламбиев Х. Получение и испытание трехвалентной гипериммунной сыворотки против вирусов парагриппа-3, аденовируса и вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота //Ветеринарно-медицинские науки, М.: 1974, №6, С.66-71.
12. Шегидевич Э.А., Юдин А.И., Федулов В.Б. Патент «Способ получения гипериммунной сыворотки против респираторных заболеваний крупного рогатого скота», № 1795582, СССР, от 08.10.1992.
13. Лукьянова И.А., Плешакова В.И., Власенко В.С. Применение иммуномодуляторов Вестин и Провест для профилактики вирусных респираторных инфекций телят // Ветеринария Кубани. 2012. №4. С.7-9.
14. Andrews A.H., Blowey R., Boyd H., Eddy R.// Bovine Medicine: Diseases ad Husbandry of cattle. Blackwell Scietific Publications, Oxford: 2004, pp 286-293.
15. Antonis A.F. Age-dependent differences in the pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus infections related to the development of natural immunocompetence // J.Gen.Virol, 2010, Vol.91, pp 2497-2506.
16. Beaudeau F., Bjorkman C., Alenius S., Frossling J. Spatial patterns of bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus in the Swedish beef cattle population // Acta. Vet. Scand., 2010, Vol. 21, pp 33.
17. Belknap E.B. The role of passive immunity in bovine respiratory syncytial virus-infected calves //Journal of Infetious Diseases, 1991, Vol.163, pp 470-476.

References

1. Basova N.Ju. Respiratornye bolezni molodnjaka krupnogo rogatogo skota infekcionnoj jetiologii v uslovijah Severnogo Kavkaza [Respiratory disease of young cattle infectious etiology in the North Caucasus]: avtoref. … dis. dokt. vet. nauk, Krasnodar, 2002, 42 p.
2. Gaffarov H.Z., Ivanov A.V., Nepoklonov E.A., Ravilov A.Z. Mono- i smeshannye infekcionnye diarei novorozhdennyh teljat i porosjat [Mono- and mixed infectious diarrhea of newborn calves and piglets] - Kazan›: FJeN, 2002, 540 p.
3. Glotov A.A. Shkil› N.A., Glotova T.I. Virusnye i associativnye virusno-bakterial›nye respiratornye bolezni krupnogo rogatogo skota (osobennosti jepizootologii, patogeneza, klinicheskogo projavlenija, patologoanatomicheskih izmenenij) [Viral and mixed viral-bacterial respiratory diseases of cattle (epizootology features, pathogenesis, clinical manifestation, pathological changes)] // Veterinarnyj konsul›tant, 2005, № 9, pp.5-14.
4. Gunenkov V.V., Shevcova L.I., Majstrenko E.S., Susskij E.V., Jarcev S.N., Ulasov V.I. Patent 2407543 RF, MPK A 61 K 39/12, Sposob poluchenija syvorotki dlja lechenija i profilaktiki virusnyh kishechnyh i respiratornyh boleznej teljat [Method for producing of serum for treatment and prevention of viral intestinal and respiratory diseases of calves], № 2009126043/15; publ. 27.10.2012.
5. Kis V.I. Seroprofilaktika pnevmojenteritov teljat v promyshlennyh otkormochnyh hozjajstvah [Seroprevention of viral pneumo-enteritis of calves in industrial feedlots], dis. … cand. vet. sci, M: 1980, 261 p.
6. Medvedev A.P. Protivobakterial›nye lechebno-profilakticheskie syvorotki [Antibacterial therapeutic and preventive serums], Vitebsk: UOVGAVM, 2007, 295 p.

Murav›ev V.N. Sistema seroprofilaktiki respiratorno-kishechnyh zabolevanii teljat smeshannoj etiologii [Seroprevention system of the respiratory-intestional diseases of calves with mixed ethiology] // Veterinarnaja medicina, 2007, №2-3, pp. 21-22.

7. Osidze D.F. Veterinarnye preparaty. Spravochnik [Seroprevention system of the respiratory-intestional diseases of calves with mixed ethiology] – M.: Kolos, 1981, 270 p.
8. Susskij E.V. Skotnikova T.A., Nochevnyj V.T., Bobrovskaja I.V. Sistema obespechenija kachestva lechebnyh syvorotok na Armavirskoj biofabrike [The quality assurance system of therapeutic serum at the Armavir Biofactory] // Veterinarnaja patologija, 2013, №2, pp. 112-117.
9. Fedorov Ju.N., Gorbunova M.Ju. Faktory immunologicheskoj zashhity u novorozhdennyh zhivotnyh [Factors of immunological defence in newborn animals] // Bulletin VIEV, Ext.47, Bolezni molodnjaka – M., 1982, pp. 60-62.
10. Cvetkov P., Haralambiev H. Poluchenie i ispytanie trehvalentnoj giperimmunnoj syvorotki protiv virusov paragrippa-3, adenovirusa i virusa infekcionnogo rinotraheita krupnogo rogatogo skota [Preparation and testing of trivalent hyperimmune serum against parainfluenza-3 virus, adenovirus virus and infectious bovine rhinotracheitis] //Veterinarno-medicinskie nauki, M.: 1974, №6, pp. 66-71.
11. Shegidevich Je.A., Judin A.I., Fedulov V.B. Patent «Sposob poluchenija giperimmunnoj syvorotki protiv respiratornyh zabolevanij krupnogo rogatogo skota» [A method for producing hyperimmune serum against respiratory diseases of cattle], № 1795582, USSR, reg. 08.10.1992. Basova N.Y. Respiratory diseases of calves infectious etiology in the conditions of the North Caucasus. Author. dis. Doctor. vet. Sciences. – Krasnodar, 2002, 42 p.
12. Luk›janova I.A., Pleshakova V.I., Vlasenko V.S. Primenenie immunomoduljatorov Vestin i Provest dlja profilaktiki virusnyh respiratornyh infekcij teljat [Use of immunomodulatory Vestin and Provest for prevention of viral respiratory infection of calves] // Veterinarija Kubani. 2012. №4. S.7-9.

UDC 619.615.373:658.652

Susskiy E.V., Basova N.Y.

DEVELOPMENT OF PRODUCTION TECHNOLOGY AND QUALITY ASSURANCE OF THE POLYVALENT SERUM AGAINST VIRAL PNEUMO-ENTERITIS OF CALVES

SUMMARY

Viral pneumo-enteritis of calves (CPE) is widely distributed in Russia and other foreign countries. The viruses like PIV-3, IBR, BVD, calicivirus, reovirus and adenovirus are considered the main pathogens for CPE, which accounts for 33,2 to 60% in large livestock farms. The colostrum, mono- and polyvalent serum are considered the most effective for protection of newborn calves against infections, many of which are developed but not commercially produced.

This article presents information on the selection and certification of cell cultures and virus strains of CPE with expressed antigenic properties. Determined the parameters for virus cultivation and manufacture of complex antigens, established the requirements for donors and developed a rational scheme of 4-fold hyperimmunization and exploitation of oxen-producers in mass production of the polyvalent serum against viral CPE. It is proved that the level of accumulation of antibodies in donor blood serum (BS) depends on the activity of viral antigens. Antibody titers in the donors BS immunized with antigens produced in continuous cell lines with roller method was almost 2 times higher than when using primary cell cultures. Proved possibility of equivalent application of cultural antigens and commercial vaccines as antigens. Results achieved by preliminary 2-fold grounding of donors with vaccines against viral CPE, during quarantine, as well as putting into practice «QC System», GMP rules and statistical methods of control on parameters at all stages of production of therapeutic serum. Application of the commercial vaccines as antigens allow receiving the BS with antibody titers that are much lower than when using polyvalent antigens. The preparation is harmless, active and demanded in practice. Preservation of newborn calves undergoing therapy and prophylaxis of viral pneumo-enteritis respectively, 92,8 to 96,7 and 93 to 100 %. Novelty and originality of a method for producing polyvalent BS against viral CPE protected by patent number 2,407,543.

Keywords: blood serum, viral pneumo-enteritis of calves, viral infections, viral antigen, hyperimmunization, polyvalent serum, quality ensuring system.

Контактная информация об авторах для переписки
Сусский Евгений Владимирович – кандидат ветеринарных наук, директор ФГУП «Армавирская биофабрика»; т. 8-861-379-43-92; abfdir@rambler.ru.
Басова Н.Ю. - доктор ветеринарных наук, заведующая лабораторией терапии ГНУ КНИВИ Россельхозакадемии, Краснодарский край, г. Краснодар, ул. 1-я линия, д. 1; тел.: 8(918)-347-20-42, knivitherapy@gmail.com

Evgeniy Vladimirovich Susskiy - Ph.D. in Veterinary Medicine, director of FSUE "Armavir biofactory"; phone: 8-861-379-43-92, abfdir@rambler.ru.
N.Y. Basova - D.Sc. in Veterinary Medicine, head of the laboratory of therapy, Krasnodar Scientific Research Veterinarian Institute, 1, pervaya liniya st., Krasnodar; phone: 8(918)-347-20-42, knivitherapy@gmail.com

УДК 619:616.98
Джупина С.И.

ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС БРУЦЕЛЛЁЗА КРС И ПЕРСПЕКТИВЫ ДЕВАСТАЦИИ ЕГО ВОЗБУДИТЕЛЯ

Резюме: Некоторые регионы РФ десятилетиями числятся неблагополучными по бруцеллёзу крупного рогатого скота. Инструкции по борьбе с этой инфекционной болезнью ориентируют на то, что возбудитель бруцеллёза распространяется горизонтальным путём от его источника (больных животных) к здоровым – восприимчивым животным. Основания для этого: случаи заболевания людей, массовое рассеивание возбудителя инфекции, сопровождающее аборты нетелей и коров, отсутствие показаний на инфицирование новорождённого приплода даже от больных животных. При этом скрытое носительство возбудителя инфекции и вертикальный путь его передачи учитывались недостаточно. Ветеринарные врачи убедились, что за 3 – 4 года можно с успехом оздоровить от этой болезни поголовье на неблагополучных фермах. Но за этот период в ранее благополучных и оздоровленных фермах происходит большое число новых вспышек бруцеллёза. На основании многолетних исследований и известных литературных данных автор утверждает, что эпизоотический процесс бруцеллёза КРС - это эволюционно сформированная закономерная жизнедеятельность возбудителя этой в организме облигатного хозяина, приводящая к образованию авирулентной L-формы. L-форма Brucella abortus bovis закономерно живёт в органах облигатного хозяина, функцию которого выполняет крупный рогатый скот, и передаётся от родителей к потомкам вертикальным путём. В результате стрессовых воздействий на животных, создается несвойственная для жизнедеятельности возбудителя инфекции среда, что обостряет заболевание и повышает вирулентность возбудителя инфекции. Стельность нетелей является стрессовым воздействием, трансформирующим L- в S-форму, что приводит к аборту и рассеиванию вирулентных S-форм. Скрытое носительство L-форм выявляет провокация вакцинами из штамма 19 или 82, что позволяет изымать таких носителей из оборота стада и обеспечивать девастацию возбудителя бруцеллеза.